

蓖麻蚕蛹体高級脂肪酸的紙上层析*

PAPER CHROMATOGRAPHIC ANALYSIS OF HIGHER FATTY ACIDS OF ERI-SILKWORM PUPA

张清刚 馮 慧

CHANG CHING-KAN & FENG HUI

(中国科学院动物研究所)

(*Institute of Zoology, Academia Sinica*)

前 言

昆虫体内高級脂肪酸的分离研究,已有不少学者利用一般化学方法做了許多工作,对进一步了解不同种类昆虫食性和营养的相互关系起了很大作用。这点,在 Gilmour(1961)的著作中已有全面的綜述。但是,由于高級脂肪酸的物理化学性質非常近似,故分离较为困难;而原有分离方法又較繁鎖。自从 Boldingh (1948) 提出并为 Ashley 等人 (1955) 所发展的利用反相紙上层析分离微量高級脂肪酸的方法以后,应用紙譜分离昆虫高級脂肪酸的报到已漸增多 (Anders, 1960; Albrecht, 1961; Fawzi 等, 1961)。本文参考近年来有关高級脂肪酸紙上层析的研究成果,提出分离昆虫高級脂肪酸的簡易方法。

材 料 和 方 法

(一) 样品的制备 被測材料为实验室内飼养的青黄品种蓖麻蚕,此蚕由北京农业大学植保系供給。在平均室温 20℃ 条件下,将化蛹一个星期的材料分別雌雄,于 80℃ 烘箱內烤干、研碎,用重蒸乙醚在索氏提取器內浸提約 20 小时 (温度为 45—50℃)。所得油样先經皂化处理,分出不皂化物;将皂化物用盐酸酸化,用乙醚提取分离脂肪酸,所得脂肪酸在加热状态下作成脂肪酸鉛盐 (別洛杰尔斯基等, 1951)。利用不飽和脂肪酸鉛盐在丙酮溶剂中的可溶性,将不飽和脂肪酸分出;剩余的飽和脂肪酸鉛盐則溶解在氯仿溶剂中,做为层析样品 (Ballance 等, 1958)。

为了除去混合脂肪酸中的不飽和酸,除作成上述的脂肪酸鉛盐以事先分离飽和与不飽和酸外,也采用平山修等 (1961) 提出的下列方法进行分离: 即在层析之前,将点于滤紙上的混合样品先經 1% KMnO_4 于 30℃ 恆溫箱內浸漬 30 分钟,然后再用 5% NaHSO_3 的 1N HCl 溶液浸漬 5 分钟,水洗多次,凉干后再按一般方法展开,不飽和酸被除去,只有飽和酸显现。

层析中的标准脂肪酸样品,除了 2 种飽和酸及油酸为純品外,亚油酸和亚麻酸是用亚麻仁油水解后的不飽和酸部分代替。

* 工作期間,承欽俊德教授提供許多寶貴意見并审阅文稿;于延芬同志代为拍摄照片,特此致謝。
(本文于 1963 年 11 月 1 日收到)

(二) 层析步骤 本文选用 Whatman 1 号滤纸, 裁成 30×2 厘米具有桥形的纸条, 滤纸条先经含有 8% 石蜡油的乙醚溶液浸透, 并放在干净滤纸上凉干, 滤纸增重约 12%—14% (Ashley 等, 1955; Buchanan, 1959)。将浓度为 0.04M 的标准脂肪酸样品 3—5 微升点滴在桥形滤纸下端的小纸片上, 然后将其置于特制的玻璃蛇形架上, 放入 $35 \times 10 \times 5$ 厘米的层析缸内 (图 1)。流动相曾使用 95%、90% 和 85% 的乙酸 (Holman, 1958), 以上行法展开。

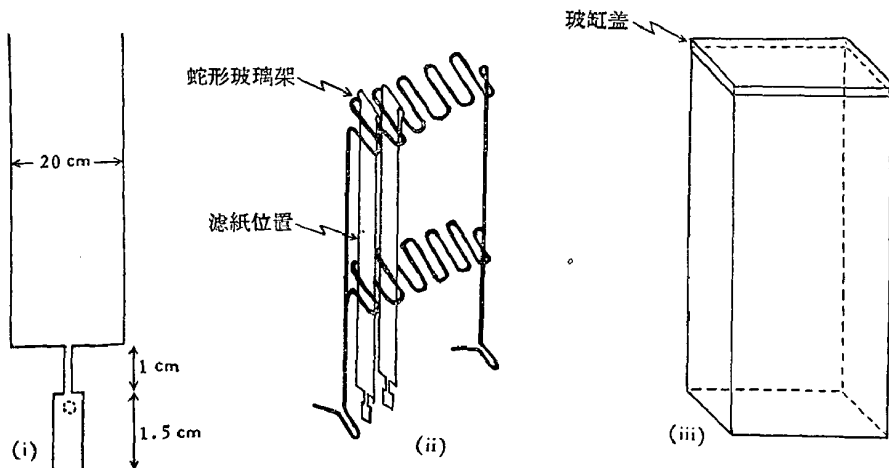


图 1 脂肪酸上行层析仪

(i) 滤纸; (ii) 蛇形玻璃层析架; (iii) 玻璃缸 ($35 \times 10 \times 5$ cm)

层析毕, 取出层析架, 待滤纸凉干后进行显色。将滤纸侵入 1% 醋酸铅溶液中 1 分钟, 水洗多次, 稍干后再浸入 5% 硫化铵溶液中片刻, 饱和脂肪酸即现出黑褐色, 不饱和脂肪酸呈棕色。为了显现混合脂肪酸中的不饱和酸, 用 0.2% KMnO_4 浸渍 5 分钟, 取出后水洗多次, 不饱和脂肪酸即现出棕黄色, 而饱和酸则不显现 (平山修等, 1961)。

结 果 和 讨 论

Matthias (1954) 曾用特制桥形滤纸上行分离氨基酸, 获得清晰结果。从本实验结果中表明, 利用特制桥形滤纸进行分离微量高级脂肪酸是比较满意的。在样品处理和层析过程中, 作者参考近年来有关研究资料, 结合化学分离方法层析, 方法既简便迅速, 结果也较清楚。对于脂肪酸的定性研究有一定实用意义。

从对蓖麻蚕雌雄蛹体高级脂肪酸的层析结果中看出, 它们均含有硬脂酸 (十八碳酸)、棕榈酸 (十六碳酸)、油酸 (十八碳一烯酸)、亚油酸 (十八碳二烯酸) 和亚麻酸 (十八碳三烯酸) 等五种脂肪酸。此外, 可能还含有微量的豆蔻酸 (十四碳酸)。本结果与 Anders (1960) 对果蝇和 Fawzi 等人 (1961) 对蝗虫体内脂肪酸的纸上层析结果相似。其中, 蝗虫除了含有上述六种脂肪酸外, 还含有纸谱上不易测出的十八碳四烯酸。

由于昆虫种类繁多, 食性和生存条件差异甚大, 脂肪的脂肪酸组分变化亦较大, 但就目前已知多目数种昆虫的脂肪组成而言, 绝大多数都含有硬脂酸、棕榈酸和油酸。至于高等动物所必需的亚油酸, 亚麻酸和廿碳四烯酸, 在昆虫体内不一定都具有。其中, 前二种

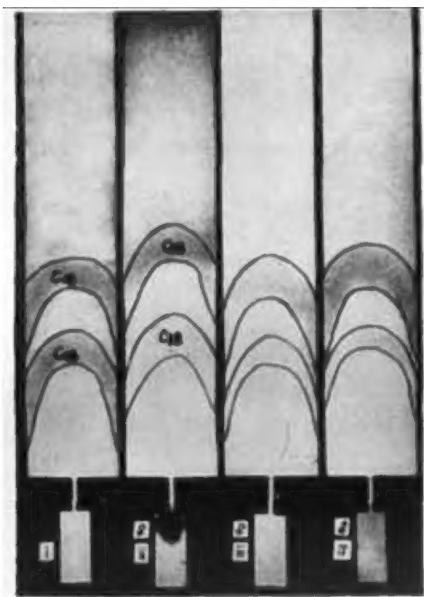


图 2 饱和脂肪酸的紙上层析譜

溶剂系統：90% 乙酸
显 色 剂：1% 醋酸鉛—5% 硫化鉍
(i) 标准棕櫚酸和硬脂酸
(ii) 蓖麻蠶雌蛹脂肪酸經 $\text{KMnO}_4\text{—NaHSO}_3$ 处理后的层析譜
(iii) 蓖麻蠶雌蛹脂肪酸鉛盐的氯仿溶液部分
(iv) 蓖麻蠶雄蛹脂肪酸鉛盐的氯仿溶液部分

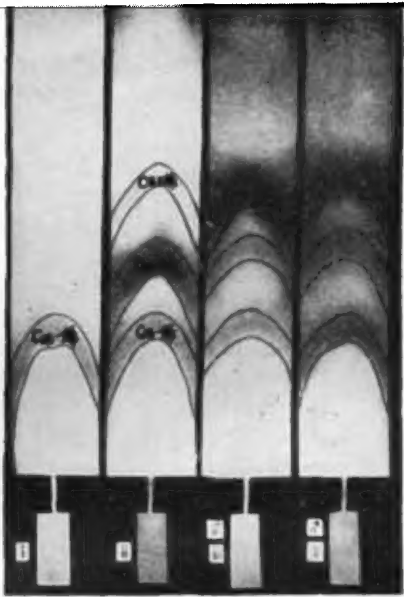


图 3 不饱和脂肪酸的紙上层析譜

溶剂系統：90% 乙酸
显 色 剂：0.2% 高锰酸鉀
(i) 标准油酸
(ii) 亚麻仁油水解样品
(iii) 蓖麻蠶雌蛹脂肪酸鉛盐的丙酮溶液部分
(iv) 蓖麻蠶雄蛹脂肪酸鉛盐的丙酮溶液部分

不飽和酸在部分昆虫中还能見到，后者則实属罕見。关于上述三种常見于昆虫体内的脂肪酸是否为昆虫生存所必需，則还有待于进一步的研究証实。

表 1 蓖麻蠶蛹高級脂肪酸的 R_f 值

脂 肪 酸	R_f 值			
	标 准 样 品	亚 麻 仁 油 (不飽和酸部分)	蓖 麻 蚕 雌 蛹	蓖 麻 蚕 雄 蛹
棕 櫚 酸	0.47		0.46	0.46
硬 脂 酸	0.32		0.31	0.31
油 酸	0.33	0.33	0.33	0.34
亚 油 酸	0.45	0.44	0.46	0.45
亚 麻 酸		0.55	0.56	0.55

溶剂系統：90% 乙酸。
溫 度：15 ± 0.5°C，展开 18 小时，約走 20 cm。

参 考 文 献

平山修、井上吉之 1961. 脂質の色层分析及其生物化学的应用 (2). $\text{C}_{10}\text{—C}_{36}$ 脂肪酸の紙层析. 日本农艺化学会志 35:138—41.
A. H. 別洛杰尔斯基等 1951. 植物生物化学实验指导. 曹宗巽等譯 1956. 高等教育出版社.
Albrecht, G. 1961. Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung einiger Insektenfette. Z. Vergl.

Physiol. 44:487—508.

- Anders, G. 1960. Papierchromatographischer Nachweis von höheren, nichtflüchtigen Fettsäuren bei *Drosophila melanogaster*. (Mit. 5 Textabbildungen.) *Rev. Suisse Zool.* 67:171—83.
- Ashley, B. D. & U. Westphal 1955. Separation of small quantities of saturated higher fatty acids by reversed-phase paper chromatography. *Arch. Biochem. Biophys.* 56:1—10.
- Ballance, P. E. & W. M. Crombie 1958. Paper chromatography of saturated and unsaturated fatty acids. *Biochem. J.* 69:632—40.
- Boldingh, J. 1948. Application of partition chromatography to mixtures insoluble in water. *Experientia* 4:270—71.
- Buchanan, M. A. 1959. Paper chromatography of the saturated fatty acids. *Analy. Chem.* 31:1616—18.
- Fawzi, M., Osman, H. & G. H. Schmidt 1961. Analyse der Körperfette von imaginalen Wandenheuschrecken der art *Locusta migratoria migratorioides* L. (Orth.). *Biochem. Zeit.* 334:441—50.
- Gilmour, D. 1961. *Biochemistry of Insects*. Academic Press, Inc., New York and London.
- Holman, R. T. 1958. The separation of fatty acids. *Experientia* 14(4):121—27.
- Matthias, W. 1954. Serienuntersuchungen mit Hilfe einer neuen Form der Streifenpapierchromatographie. *Naturwissenschaftler* 41:17—8.